

SKRIPSI

NUR WAZILAH

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL
ASETAT BUNGA *Impatiens balsamina* L.
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DENGAN
METODE DIFUSI CAKRAM**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG**

2017

Lembar Pengesahan

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL
ASETAT BUNGA *Impatiens balsamina* L. TERHADAP
BAKTERI *Escherichia coli* DENGAN METODE DIFUSI
CAKRAM**

SKRIPSI

Dibuat untuk memenuhi syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi pada

Program studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan

Universitas Muhammadiyah Malang

2017

Oleh :

NUR WAZILAH

NIM : 201310410311259

Disetujui Oleh :

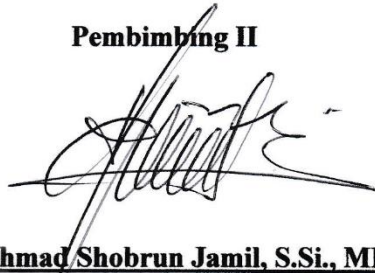
Pembimbing I



Siti Rofida, S.Si., M.Farm., Apt

NIP. 11408040453

Pembimbing II



Ahmad Shobrun Jamil, S.Si., MP

NIP. 11309070469

Lembar Pengujian

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL
ASETAT BUNGA *Impatiens balsamina* L. TERHADAP
BAKTERI *Eschericia coli* DENGAN METODE DIFUSI
CAKRAM**

SKRIPSI

Telah diuji dan dipertahankan di depan tim penguji

Pada tanggal 27 September 2017

Oleh :

**NUR WAZILAH
NIM : 201310410311259**

Disetujui Oleh :

Penguji I



**Siti Rofida, S.Si., M.Farm., Apt.
NIP. 11408040453**

Penguji II



**Ahmad Shobrun Jamil, S.Si., MP.
NIP. 11309070469**

Penguji III



**Engrid Juni Astuti, M.Farm., Apt.
NIP. 11216120589**

Penguji IV



**Dra. Uswatun Chasanah, M.Kes., Apt.
NIP. 11407040448**

KATA PENGANTAR

Syukur alhamdulillah penulis panjatkan kepada Allah SWT karena atas limpahan rahmat, hidayah serta karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Bunga *Impatiens balsamina* L. terhadap Bakteri *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Cakram”.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, skripsi ini tidak akan terselesaikan. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Ibu Siti Rofida, S.Si., M.Farm., Apt. selaku dosen pembimbing I yang dengan penuh kesabaran memberikan pengertian, arahan, dukungan serta bimbingan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
2. Bapak Ahmad Shobrun Jamil, S.Si., M.P. selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan arahan, dukungan serta bimbingan kepada penulis agar dapat menyelesaikan skripsi ini.
3. Ibu Engrid Juni A, S.Farm., M.Farm., Apt. selaku dosen penguji I atas kritik dan sarannya untuk menyempurnakan skripsi ini.
4. Ibu Dra. Uswatun Chasanah, M.Kes., Apt. selaku dosen penguji II atas semua kritik dan sarannya untuk menyempurnakan skripsi ini.
5. Bapak Yoyok Bakti Prasetyo, M.Kep., Sp.Kom. selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Malang atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti program sarjana.
6. Ibu Dian Ermawati, M.Farm., Apt. selaku Ketua Program Studi Farmasi UMM yang telah memberikan kesempatan dan motivasi penulis dalam pengerjaan skripsi ini.
7. Ibu Sovia Aprina Basuki, S.Farm., M.Si., Apt. selaku Kepala Laboratorium Farmasi UMM yang telah memberikan kesempatan untuk menggunakan fasilitas laboratorium dalam menyelesaikan skripsi ini.
8. dr. Desy Andari, M. Biomed. selaku Kepala Laboratorium Biomedik PPD UMM yang telah memberikan izin untuk menggunakan fasilitas laboratorium selama penelitian skripsi.
9. Ibu Agustin Rafikayanti, S.Farm selaku Dosen Wali atas bimbingannya selama ini. Para Dosen Program Studi Farmasi serta para Dosen dari Fakultas

Kedokteran UMM yang telah memberikan waktu untuk mengajarkan ilmu-ilmu dan pengetahuan kepada penulis yang semoga ilmu tersebut dapat berguna bagi penulis dan juga orang lain.

10. Para Laboran dari Laboratorium Kimia Terpadu II mbak Evi, mas Ferdi, dan mbak Susi serta Bapak Joko dan Laboran dari Laboratorium Biomedik PPD UMM atas bimbingannya dan arahannya selama penulis melakukan penelitian.
11. Kedua orang tua tercinta Bapak Mohammad Aris dan Ibu Suliyah atas doa yang selalu dipanjatkan untuk kesuksesan anaknya, atas curahan kasih sayang yang tiada hentinya, serta segala bentuk motivasi yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh pendidikan sampai di tingkat perguruan tinggi.
12. Orang-orang tersayang Ayah Muslimin, Nenek, Mbah, Om, Tante yang tiada hentinya memberikan semangat, do'a, dan dukungan moril maupun materiil, serta memberikan dorongan agar lebih semangat dari awal hingga akhir pengerjaan skripsi.
13. Kelompok skripsi pacar air Lintang Alhaj F.D., Yenny Endah Sari, Hafidhah Sabrina, Muhammad Erfan, Nindya Alfa Dicha A.W., Dinda Oni Tsarah F.G., Parista Adellina dan Selvia Mufida teman-teman seperjuangan dalam penelitian dari awal hingga akhir, terima kasih atas bantuan selama penyusunan dan penyelesaian skripsi ini.
14. Sahabatku Yenny, Auli, Nisa', Ira, dan Nela yang telah dengan sabar mendengarkan keluh kesah penulis, selalu memberikan motivasi, bantuan, dukungan serta semangat selama pengerjaan skripsi. Teman seperjuangan skripsi Vivi di kos atas bantuan dan semangatnya selama pengerjaan skripsi.
15. Teman-teman KKN tersayang Caprisia Tiaravicka H., Febry T. Cahyani, Intan Pratiwi, Rahma Sarifah, dan Febri Rahayu Putri atas dukungannya selama ini. Semoga kita jadi orang yang sukses dan berguna di masa depan. Amin.
16. Teman-teman farmasi angkatan 2013 atas rasa kekeluargaan di akhir-akhir perjuangan kita meraih gelar sarjana.
17. Serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, penulis mohon maaf dan terima kasih yang sebesar-besarnya. Semua keberhasilan ini tak luput dari bantuan kalian.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca serta ilmu pengetahuan terutama di bidang kefarmasian.

Malang, 19 September 2017

Penulis,

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Nur Wazilah', with a horizontal line extending from the end of the signature.

Nur Wazilah

RINGKASAN

Penyakit infeksi merupakan penyebab utama penyakit di dunia terutama di daerah tropis seperti Indonesia, karena temperatur yang tropis dan kelembaban tinggi sehingga mikroba dapat tumbuh subur (Davey, 2005). Salah satu penyebab terjadinya penyakit infeksi adalah bakteri *Escherichia coli* (Jawetz, *et al.*, 2005). Bakteri *E. coli* adalah bakteri Gram negatif yang berbentuk batang dan merupakan salah satu bakteri fakultatif anaerob (Arisman, 2009). *Escherichia coli* adalah flora normal yang terdapat dalam gastrointestinal, tetapi jika jumlahnya melebihi jumlah ambang batas normal gastrointestinal dapat menyebabkan infeksi seperti diare akut maupun kronis (Jawetz, *et al.*, 2005). Selain itu *E. coli* dapat menyebabkan infeksi traktus urinarius, meningitis, dan septikemia (Yenny, 2007).

Penanggulangan penyakit infeksi umumnya menggunakan antibakteri. Antibakteri memiliki peranan penting dalam kesehatan yang diharapkan mampu menghambat pertumbuhan serta membunuh bakteri penyebab infeksi. Namun telah banyak resistensi terhadap antibakteri akibat penggunaan yang kurang tepat (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2015). Telah banyak diteliti tanaman-tanaman yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri salah satunya tanaman *I. balsamina* L. atau biasa disebut dengan pacar air, dimana dalam penelitian sebelumnya diidentifikasi memiliki senyawa metabolit sekunder naftoquinon, turunan kumarin, tanin, flavanoid, dan steroid (Adfa, 2007).

Penelitian ini menggunakan bunga *I. balsamina* L. berwarna ungu yang difraksinasi dengan maserasi kinetik, kemudian dilakukan identifikasi dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Fraksi etil asetat bunga *I. balsamina* L. yang digunakan dalam penotolan sebanyak 5 µl ditotolkan pada plat silika gel TLC 60 F₂₅₄, kemudian dikembangkan dengan fase gerak n-heksan : etil asetat (2:8). Dari pengujian didapatkan hasil yaitu fraksi etil asetat bunga *I. balsamina* L. positif mengandung senyawa golongan flavonoid, polifenol, alkaloid, kuinon dan turunannya antrakuinon serta terpenoid. Kemudian dilakukan pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dengan teknik *pour plate* untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi etil asetat bunga *I. balsamina* L. terhadap bakteri *E. coli*.

Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram meliputi beberapa variabel, yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi fraksi etil asetat bunga *I. balsamina* L. yang digunakan yaitu: 20%, 10%, dan 5% yang setara dengan satuan berat fraksi 200 µg, 100 µg, dan 50 µg, sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat yang dihasilkan oleh fraksi etil asetat bunga *I. balsamina* L. yang ditandai dengan adanya daerah bening di sekitar senyawa uji pada media agar yang digunakan sebagai parameter untuk menentukan daya hambat pertumbuhan bakteri *E. Coli*, kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol 30 µg/disk.

Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan didapatkan hasil yaitu hasil rendemen fraksinasi bunga *I. balsamina* L. sebesar 31,08%. Hasil identifikasi dengan KLT didapatkan hasil bahwa dalam fraksi etil asetat bunga *I. balsamina* L. mengandung senyawa flavonoid, polifenol, alkaloid, kuinon dan turunannya antrakuinon serta terpenoid. Hasil pemisahan dengan kromatografi lapis tipis dan setelah plat KLT disemprot dengan penampak noda diperoleh jumlah spot noda yang berbeda. Didapatkan hasil senyawa flavonoid menunjukkan warna kuning

intensif dengan nilai Rf yaitu 0,69; senyawa polifenol menunjukkan warna hitam dengan nilai Rf noda 1 = 0,84, noda 2 = 0,19; senyawa alkaloid menunjukkan warna jingga dengan nilai Rf noda 1 = 0,46, noda 2 = 0,06; senyawa antrakuinon dengan nilai Rf noda 1 = 0,84 (hijau), noda 2 = 0,84 (kuning coklat), noda 3 = 0,37 (merah), noda 4 = 0,09 (kuning coklat); dan senyawa terpenoid menunjukkan warna ungu dengan nilai Rf noda 1 = 0,96, noda 2 = 0,85, noda 3 = 0,41.

Adapun untuk pengujian aktivitas antibakteri diperoleh data hasil rata-rata \pm standar deviasi yang didapat dari fraksi etil asetat bunga *I. balsamina* L. untuk bakteri uji *E. coli* pada konsentrasi 20%, 10%, dan 5% yang setara dengan satuan berat fraksi 200 μ g, 100 μ g, dan 50 μ g menunjukan hasil daya hambat yang berbeda yaitu masing-masing $10,29 \pm 0,70$ mm; $8,62 \pm 0,33$ mm; dan $7,83 \pm 0,56$ mm. Disimpulkan bahwa fraksi etil asetat bunga *I. balsamina* L. berwarna ungu mengandung flavonoid, polifenol, alkaloid, kuinon dan turunannya antrakuinon serta terpenoid dan memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* ditinjau dari terbentuknya diameter zona hambat setelah dilakukan pengujian dengan metode difusi cakram dengan teknik *pour plate*.

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT BUNGA *Impatiens balsamina* L. TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DENGAN METODE DIFUSI CAKRAM

Nur Wazilah*, Siti Rofida, Ahmad Shobrun Jamil

Prodi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Malang

*Email: nur.wazilah@gmail.com

Latar belakang: Bunga *Impatiens balsamina* L. merupakan tanaman yang bermanfaat sebagai obat tradisional. Aktivitas antibakteri tanaman ini telah dibuktikan oleh beberapa penelitian karena adanya senyawa naftoquinon, turunan kumarin, flavanoid, dan steroid. Banyak ditemukan resistensi akibat penggunaan antibakteri yang kurang tepat dan rasional sehingga untuk mengatasinya perlu ditemukan sumber obat-obatan alami yang berpotensi sebagai antibakteri seperti bunga *Impatiens balsamina* Linn.

Tujuan: Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat pada fraksi etil asetat bunga *Impatiens balsamina* Linn. Serta untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi etil asetat bunga *Impatiens balsamina* L. terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan metode difusi cakram ditinjau dari diameter zona hambat.

Metode: Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram. Bunga *Impatiens balsamina* L. difraksinasi menggunakan maserasi kinetik selama 4 jam. Kemudian dilakukan identifikasi golongan senyawa menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram pada konsentrasi 20%, 10%, dan 5% terhadap bakteri *Escherichia coli* dan diukur zona beningnya.

Hasil dan kesimpulan: Hasil yang didapat setelah pengujian fraksi etil asetat bunga *Impatiens balsamina* L. ungu mengandung senyawa flavonoid, polifenol, alkaloid, antrakuinon, dan terpenoid. Pada pengujian dengan metode difusi cakram diperoleh hasil rata-rata diameter zona hambat pada konsentrasi 20% sebesar $10,29 \pm 0,70$ mm, konsentrasi 10% sebesar $8,62 \pm 0,33$ mm, dan konsentrasi 5% sebesar $7,83 \pm 0,56$ mm. Hal tersebut membuktikan bahwa fraksi etil asetat bunga *Impatiens balsamina* L. memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Kata kunci: Aktivitas antibakteri, Bunga *Impatiens balsamina* L., *Escherichia coli*, Difusi cakram.

ABSTRACT

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF ETHYL ACETATE FRACTION OF *Impatiens balsamina* L. FLOWERS AGAINST *Escherichia coli* BACTERIA WITH DISC DIFFUSION METHOD

Nur Wazilah*, Siti Rofida, Ahmad Shobrun Jamil

Department of Pharmacy, Faculty of Health Sciences, University of
Muhammadiyah Malang

*Email: nur.wazilah@gmail.com

Background: *Impatiens balsamina* L. flower is plants that used as traditional medicine. The antibacterial activity of this plant evidenced by several studies because contain the compound naphthoquinone, coumarin derivatives, flavonoids, and steroids. Many found the resistance caused by the use antibacterial is not appropriate and rational, so to solve it needs to be found the source of herbal medicine that potentially as antibacterial such as *Impatiens balsamina* L. flowers.

Objective: The purpose of this study to find out the compounds found in the ethyl acetate fraction of *Impatiens balsamina* L. flowers and to find out the antibacterial activity against *Escherichia coli* bacteria with disc diffusion method that viewed from the diameter of inhibition zone.

Method: Antibacterial activity test is using disc diffusion method. *Impatiens balsamina* L. flower is fractionated using kinetic maceration for 4 hours. Identification of compounds conducted using Thin Layer Chromatography (TLC). Then antibacterial activity test conducted with disc diffusion method at concentrations 20%, 10%, and 5% against *Escherichia coli* bacteria and measured the clear zone.

Result and Conclusion: The results obtained after testing ethyl acetate fraction of *Impatiens balsamina* L. purple flowers contain flavonoids, polyphenols, alkaloids, anthraquinone, and terpenoid. On the testing of disc diffusion method obtained results the average diameter of inhibition zone at concentrations 20% of $10,29 \pm 0,70$ mm, at concentrations 10% of $8,62 \pm 0,33$ mm, and at concentrations 5% of $7,83 \pm 0,56$ mm. This proves that the ethyl acetate fractions of *Impatiens balsamina* L. flowers have antibacterial activity against growth of *Escherichia coli* bacteria.

Keyword: antibacterial activity, *Impatiens balsamina* L. flowers, *Escherichia coli*, disc diffusion.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PENGUJIAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
RINGKASAN	vii
ABSTRAK	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN.....	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Tinjauan Tentang Tanaman <i>Impatiens balsamina</i> L.	6
2.1.1 Klasifikasi	6
2.1.2 Sinonim.....	6
2.1.3 Nama Daerah	6
2.1.4 Morfologi	7
2.1.5 Habitat dan Distribusi Geografis	8
2.1.6 Manfaat tanaman <i>Impatiens balsamina</i> L.....	8
2.2 Tinjauan Tentang <i>Escherichia coli</i>	9
2.2.1 Taksonomi	9
2.2.2 Morfologi dan Sifat.....	9
2.2.3 Patogenesis dan Patologi	11
2.3 Tinjauan Umum Infeksi	12
2.4 Terapi	13

2.4.1 Tinjauan Tentang Antibiotik.....	14
2.4.2 Kloramfenikol.....	14
2.4.3 Resistensi Antibiotik.....	16
2.5 Tinjauan Uji Kepekaan Terhadap Antimikroba Secara In Vitro.....	16
2.5.1 Metode Difusi Cakram.....	18
2.6.2 Maserasi	20
2.6.3 Maserasi Kinetik	20
2.6.4 Tinjauan Tentang Pelarut.....	21
2.7 Tinjauan Kromatografi Lapis Tipis.....	21
2.7.1 Fase Diam	22
2.7.2 Fase Gerak	23
2.8 Tinjauan Tentang Macam-Macam Pengujian Antibakteri	23
2.8.1 Metode Difusi	23
2.8.2 Metode Dilusi	24
2.8.3 Metode Bioautografi	24
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL.....	26
3.1 Bagan Kerangka Konseptual.....	26
3.2 Uraian Kerangka Konseptual	27
BAB IV METODE PENELITIAN	30
4.1 Lokasi Penelitian.....	30
4.2 Alat Penelitian.....	30
4.2.1 Pembuatan Serbuk Simplisia	30
4.2.2 Proses Ekstraksi	30
4.2.3 Pengujian Difusi Cakram.....	30
4.2.4 Pemisahan Senyawa dengan KLT	31
4.3 Bahan penelitian.....	31
4.3.1 Bahan uji	31
4.3.2 Proses Fraksinasi.....	32
4.3.3 Pengujian Difusi Cakram.....	32
4.3.4 Identifikasi Senyawa dengan KLT	32
4.3.5 Sampel Bakteri.....	32
4.4 Variabel Penelitian	32

4.4.1 Variabel Bebas	32
4.4.2 Variabel Terikat	32
4.5 Sterilisasi Alat dan Bahan	33
4.5.1 Sterilisasi Kering.....	33
4.5.2 Sterilisasi Basah.....	33
4.6 Metode Penelitian.....	33
4.6.1 Rancangan Penelitian.....	33
4.6.2 Kerangka Operasional.....	34
4.7 Prosedur Kerja.....	35
4.7.1 Pembuatan Simplisia.....	35
4.7.2 Pembuatan Bahan Uji	35
4.7.3 Pemisahan Senyawa dengan KLT	37
4.7.4 Identifikasi Komponen Senyawa	38
4.7.5 Pembuatan Standar McFarland	38
4.7.6 Preparasi Bakteri.....	39
4.7.7 Preparasi Media	40
4.7.8 Pembuatan Konsentrasi Larutan Uji	40
4.7.9 Pengujian Antibakteri dengan Metode Difusi Cakram.....	41
4.7.10 Analisis Data.....	42
BAB V HASIL PENELITIAN	43
5.1 Hasil Determinasi Bunga <i>Impatiens balsamina</i> L.	43
5.2 Hasil Fraksinasi	43
5.2.1 Hasil Serbuk Simplisia Bunga <i>Impatiens balsamina</i> L.	43
5.2.2 Hasil Organoleptik Fraksi Etil Asetat Bunga <i>I. balsamina</i> L.	44
5.3 Hasil Fraksi Etil Asetat Bunga <i>Impatiens balsamina</i> L.	44
5.4 Hasil Uji KLT Fraksi Etil Asetat Bunga <i>Impatiens balsamina</i> L.	45
5.4.1 Identifikasi Senyawa Alkaloid dengan KLT	45
5.4.2 Identifikasi Senyawa Terpenoid dengan KLT	46
5.4.3 Identifikasi Senyawa Flavonoid dengan KLT	47
5.4.4 Identifikasi Senyawa Polifenol dengan KLT.....	48
5.4.5 Identifikasi Senyawa Antrakuinon dengan KLT	49
5.4.6 Hasil Pengukuran Nilai R _f dari Kromatografi Lapis Tipis.....	49

5.5 Hasil Identifikasi Bakteri <i>Escherichia coli</i> secara Morfologi	50
5.6 Hasil Uji Antibakteri Fraksi Etil Asetat Bunga <i>Impatiens balsamina</i> L.....	51
BAB VI PEMBAHASAN.....	54
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	65
7.1 Kesimpulan	65
7.2 Saran.....	65
DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN.....	73

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
II.1 Gejala klinis, epidemiologi dan faktor virulensi dari beberapa strain <i>Escherichia coli</i>	12
V.1 Hasil Identifikasi Organoleptik dari Fraksi Etil Asetat Bunga <i>Impatiens balsamina</i> L.....	44
V.2 Hasil KLT dari Fraksi Etil Asetat Bunga <i>Impatiens balsamina</i> L.	50
V.3 Hasil Uji Antibakteri Fraksi Etil Asetat Bunga <i>Impatiens balsamina</i> L.	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Bunga <i>Impatiens balsamina</i> L.	6
2.2 <i>Escherichia coli</i>	9
2.3 Rumus Struktur Kloramfenikol	14
3.1 Bagan Kerangka Konseptual	26
4.1 Skema Kerangka Operasional	34
4.2 Bagan Alir Proses Fraksinasi Bunga <i>Impatiens balsamina</i> L. dengan Pelarut Etil asetat.....	37
4.3 Tabel Standar McFarland	39
4.4 Bagan Prosedur Pengujian Antibakteri dengan Metode Difusi Cakram.....	42
5.1 Bunga <i>Impatiens balsamina</i> L. basah (A), Bunga <i>Impatiens balsamina</i> L. kering (B), Serbuk simplisia Bunga <i>Impatiens balsamina</i> L. (C).....	43
5.2 Hasil penimbangan serbuk Bunga <i>Impatiens balsamina</i> L.....	44
5.3 Fraksi Kental Bunga <i>Impatiens balsamina</i> L. warna ungu	45
5.4 Hasil identifikasi senyawa alkaloid dengan Kromatografi Lapis Tipis	46
5.5 Hasil identifikasi senyawa terpenoid dengan Kromatografi Lapis Tipis	47
5.6 Hasil identifikasi senyawa flavonoid dengan Kromatografi Lapis Tipis	48
5.7 Hasil identifikasi senyawa polifenol dengan Kromatografi Lapis Tipis.....	48
5.8 Hasil identifikasi senyawa antrakuinon dengan Kromatografi Lapis Tipis ...	49
5.9 Uji Antibakteri Fraksi Etil Asetat Bunga <i>Impatiens balsamina</i> L. dengan metode difusi cakram terhadap <i>Escherichia coli</i>	53
5.10 Perbandingan aktivitas antibakteri pada beberapa konsentrasi fraksi etil asetat bunga <i>Impatiens Balsamina</i> L. dengan metode difusi cakram	53

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Daftar Riwayat Hidup	73
2. Surat Pernyataan.....	74
3. Surat Determinasi.....	75
4. Surat Hasil Bakteri Uji	76
5. Perhitungan	77
6. Konsentrasi Larutan Uji	78
7. Prosedur Penelitian.....	79
8. Gambar Hasil Uji Difusi Cakram.....	85
9. Data Hasil Penelitian.....	86
10. Alat dan Bahan Penelitian	88

DAFTAR SINGKATAN

Singkatan

µl	= <i>mikroliter</i>
µg	= <i>mikrogram</i>
CFU	= <i>Coloni Forming Unit</i>
KLT	= <i>Kromatografi Lapis Tipis</i>
mg	= <i>miligram</i>
ml	= <i>milliliter</i>
mm	= <i>millimeter</i>
MHA	= <i>Mueller Hinton Agar</i>
NB	= <i>Nutrient Broth</i>
ETEC	= <i>Enterotoxigenic Escherichia coli</i>
EPEC	= <i>Enteropathogenic Escherichia coli</i>
EaggEC	= <i>Enteraggregative Escherichia coli</i>
EIEC	= <i>Enteroinvasive Escherichia coli</i>
EHEC	= <i>Enterohemorrhagic Escherichia coli</i>
VT	= <i>verocytotoxin</i>
Rf	= <i>Retention factor</i>
rpm	= <i>rotation per minute</i>
UV	= <i>Ultra Violet</i>

DAFTAR PUSTAKA

- Adfa, M., dan Kasrina, 2001, *Pacar air (Impatiens spp.) sebagai Tanaman Obat Masyarakat Bengkulu: Survey Etnobotani dan Keanekaragaman hayati*, Laporan Penelitian, Lembaga Penelitian Universitas Bengkulu.
- Adfa, M. 2007. *Senyawa Antibakteri Dari Daun Pacar Air (Impatiens Balsamina L.)*. *Jurnal Penelitian*. Jurnal Gradien Vol.4 (1). Halaman 318-322.
- Agoes, Goeswin, 2007. *Teknologi bahan alam*. Jakarta: Institut Teknologi Bandung. Hal. 20-27. Ansel, H.C. 2005. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, Edisi 4, UI Press, Jakarta, hal 96,147.
- Almira, R. 2008. *Kajian Aktivitas Fraksi Hexsan Rimpang Kunyit (Curcuma Longa Linn) Terhadap Proses Persembuhan Luka Pada Mencit (Mus musculus Albinus)*. [Skripsi]. FKH IPB, Bogor.
- Amrullah, A. Wardhana, 2015, *Air (Impatiens balsamina L.) terhadap bakteri Escherichia coli multiresisten dan Staphylococcus aureus multiresisten serta bioautografinya*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta
- Anggara, E. D., dkk. 2014. *Uji Aktivitas Antifungi Fraksi Etanol Infusa Daun Kepel (Stelechocarpus Burahol, Hook F&Th.) terhadap Candida albicans*. Yogyakarta: Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Arisman, 2009, *Buku Ajar Ilmu Gizi Keracunan Makanan*, Jakarta, Buku Kedokteran EGC
- Balows, A.,1994, *Current Techniques for Antibiotic Susceptibility Testing*, Springfield, Charles C. Thomas.
- Besung, I N.K. 2010. *Kejadian Kolibasilosis Pada Anak Babi*. Terdapat pada <http://ejournal.unud.ac.id/abstrak/kerta%20besung%20130102010.pdf>. Diakses tanggal 20 Oktober 2016.
- Budiana, S.M.A., *et al.*, 2015. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga dan Biji Tanaman Pacar Air (Impatiens Balsamina L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus, Pseudomonas Aeruginosa dan Escherichia coli Secara In-Vitro* *Jurnal Ilmiah Agrobisnis Perikanan*. Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi. Manado.
- Cappuccino, J.G., Sherman, N. 2014. **Microbiology : a laboratory manual**. . 10th ed. United States of America: Pearson Education Inc. 75-79.
- Choma, I., 2005, *The Use of Thin-Layer Chromatography With Direct Bioautography for Antimicrobial Analysis*, *LCGC Europa*, 18, 482–489.
- Ciesla WP, Guerrant RL. Infectious Diarrhea. In: Wilson WR, Drew WL, Henry NK, et al editors. *Current Diagnosis and Treatment in Infectious Disease*. New York: Lange Medical Books, 2003. 225 - 68.

- Cowan M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. **Clin Microbio Review**; 12(4). h. 564-82.
- Dalimartha, S. 2003. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia III. Jakarta: Trubus Agriwidya, hal 84-88
- Davey, P. 2005. **At a Glance Medicine**. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Debashree N, A Subhalakshmi, S Rita, dan A Pfuzia. 2013. Study of Analgesic and Antiinflammatory Effects of Impatiens balsamina leaves in albino Rats. **Int J Pharm Bio Sci**. 4(2): 581-587.
- Depkes RI. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Cetakan pertama. Jakarta : Direktorat Jendral Pengawas Obat dan Makanan, Jakarta, hal 9.
- Dewanjee, S., Gangopadhyay, M., Bhattacharya, N., Khanra, R., Dua, T. K., 2014. Review Paper Bioautography and Its Scope in Thefield of Natural Product Chemistry. **Journal of Pharmaceutical Analysis**. p. 1-4.
- Dzen, S.M, S.S. Roekistiningsi, S. Winarsih, Sumarno, S. Islam, A.S Noorhamdani, S. Murwani, dan D. Santosaningsih. 2003. Bakteriologi Medik. Malang: Bayumedia Publishing, hal 131-139.
- Ericsson, J. M., & Sherris, J. C., 1971, Antibiotic Sensitivity Testing: Report of An International Collaborative Study, **Acta Pathol Microbiol Scand**, 217, 1-90.
- Fardiaz, S. 1992. **Mikrobiologi Pangan**. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Fauzana, D. L., 2010. Perbandingan Metode Maserasi, Remaserasi, Perkolasi dan Reperkolasi Terhadap Rendemen Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Petanian Bogor. Bogor.
- Ferdinanti, E. 2001. *Uji aktivitas antibakteri obat kumur minyak cengkeh (Syzygium aromaticum (L) Merr & Perry) asal bunga, tangkai bunga, dan daun cengkeh terhadap bakteri*. (Skripsi). Jakarta: Institut Sains dan Teknologi Nasional.
- Fukomoto, H., K. Isoi, K. Ishiguro, M. Semma, T. Murashima, 1994, **J. Phytochemistry**, 37(5), 1486-1488.
- Fukomoto, H., K. Isoi, K. Ishiguro, M. Semma, M. Yamaki, 1996, **Phytother-res**, 10(3),202-206.
- Gaby, 2007. Bioaktifitas Ekstrak Metanol daun Pacar air (*Impatiens Balsamica L*) terhadapPertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Pseudomonas Aeruginosa* Penyebab Cantengan. *Skripsi*. Fakultas Matematika, Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Hasanuddin. Makassar.Pengetahuan Alam. Universitas Hasanuddin. Makassar.

- Geidam, Y.A., A.G. Ambali., P.A. Onyeyili. 2007. Preliminary Phytochemical and Bacterial Evaluation of Crude Aqueous Extract of *Psidium guajava* Leaf. **Journal of Applied Sciences**. 7(4):511-4.
- Ginns, C. A. 2000. *Colonization o the Respiratory Tract by a Virulent Strain of Avian Escherichia coli Requires carriage of a Conjugative Plasmid. Infection and Immunity*. Vol 3(68). Hal 1535-1541. Terdapat pada <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Diakses tanggal 19 Oktober 2016.
- Guerrant RL, Gilder TV, Steiner TS, et al. Practice Guidelines for the Management of Infectious Diarrhea. **Clinical Infectious Diseases** 2001;32:331-51.
- Hariana, arief. 2013. 262 TUMBUHAN OBAT DAN KHASIATNYA. Jakarta: Penebar Swadaya, hal 257.
- Hendarwanto. Diare akut Karena Infeksi, Dalam: Waspadji S, Rachman AM, Lesmana LA, dkk, editor. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid I. Edisi ketiga. Jakarta: Pusat Informasi dan Penerbit Bagian Ilmu Penyakit Dalam FKUI ;1996. 451-57.
- Hermawan, A., Eliyani, H., & Tyasningsih, W., 2007, Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Disk, **Artikel Ilmiah**, Universitas Erlangga.
- Ibrahim, A., Kuncoro, H., 2012. Identifikasi Metabolit Sekunder Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack.) Terhadap Beberapa Bakteri Patogen. **J. Trop. Pharm. Chem.**, Vol 2. No. 1, p. 8-14.
- Ismaini, L., 2015, *Pengaruh alelopati tumbuhan invasif (Clidemia hirta) terhadap germinasi biji tumbuhan asli (Impatiens platypetala)*, UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Cibodas, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cianjur, Jawa Barat
- Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg, E. A., 2001, **Mikrobiologi Kedokteran** 22nd ed., 205 235, Surabaya.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., & Aldelberg, E. A., 2005, **Mikrobiologi Kedokteran**, Edisi XXIII, diterjemahkan oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E.B., Mertaniasih, N.M., Harsono, S., Alimsardjono, L., Jakarta, Salemba Medika, 224 225, 317-349, 352
- Jawetz, E, J.L melnick, dan E.A Adelberg. 2013. Medical Microbiology 26th Edition. United States: **The McGraw-Hill Companies** p.199-205. Diakses pada tanggal Kamis 20 Oktober 2016.
- Karlina, C., Muslimin I., dan Guntur, T. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (*Portulaca oleracea* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Universitas Negeri Surabaya*.

- Karsinah, H. M., Lucky, Suharto, & Mardiasuti, 1994, **Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran**, Edisi Revisi, Jakarta, Binarupa Aksara.
- Katarnida, S. S., Karyanti, M. R., Oman, D. M., Katar, Y., 2013. Pola Sensitifitas Bakteri dan Penggunaan Antibiotik. **Sari Pediatri**. Vol. 15 No. 2, p. 122-126.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2015. “*Pemahaman Masyarakat Akan Penggunaan Obat Masih Rendah.*” <http://www.depkes.go.id/article/print/15112700005/pemahaman-masyarakat-akan-penggunaan-obat-masih-rendah.html>. Diakses pada tanggal 22 Oktober 2016
- Kusmayati, & Agustini, R. N. W., 2007, Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dan Mikrolaga, **Biodiversitas**, 8 (1), 48–53.
- Kusuma, G.A., *et al.*, 2014. Uji Daya Hambat Dari Ekstrak Tanaman Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas Hydrophila*. *Jurnal Ilmiah Agrobisnis Perikanan*. Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi. Manado.
- Lim, Y., Kim, I., dan Seo, J., 2007, *In vitro* Activity of Kaempferol Isolated from the *Impatiens balsamina* alone and in Combination with Erythromycin or Klindamisin against *Propionibacterium acnes*, **The Journal of Microbiology**, 45 (5), 437-477
- Lorian, V., 1980, **Antibiotic in Laboratory Medicine**, Jilid 1, 510–515, Jakarta, Universitas Indonesia Press.
- Lung E, Acute Diarrheal Disease. In: Friedman SL, McQuaid KR, Grendell JH, editors. *Current Diagnosis and Treatment in Gastroenterology*. 2nd edition. New York: **Lange Medical Books**, 2003. 131 - 50.
- Mandal V, Yogesh MH. 2007. *Microwave assisted Extraction – An Innovative and Promising Extraction Tool for Medicinal Plant Research*. *Pharmacognosy Rev* 1: 7-18.
- Manning, S. D., 2005. *Escherichia Coli Infections*. Cetakan Pertama. Philadelphia: Chelsea House Publishers, p. 15-23.
- Martaleni. 2007. *Deteksi Residu Antibiotika Pada Karkas. Organ Dan Kaki Ayam Pedaging Yang Di Peroleh Dari Pasar Tradisional Kabupaten Tangerang*. Tesis. Institut Pertanian Bogor.
- Martiasih, Maria, *et al.* 2012. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya terhadap *Escherichia coli* dan *Streptococcus pyogenes*. Fakultas Teknologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta
- Maulana H. 2005. *Pengaruh Ekstrak Benalu Teh (Scurrula oortiana) sebagai Alternatif Aditif Antibiotik Klortetrasiklin terhadap Titer Antibodi dan*

serum pada Ayam Broiler. Skripsi. Fakultas peternakan Universitas Diponegoro. Semarang.

McFarland J. 1907. Nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions. **J Am Med Assoc**. Vol.14 p. 1176-1178.

Menteri Kesehatan RI, 2011, Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 1691 / MENKES / PER / VIII / 2011 tentang Keselamatan Pasien Rumah Sakit, Jakarta, Departemen Kesehatan Republik Indonesia

Miller, A., L. 1996. *Antioxidant Flavonoids: Structure, Function and Clinical Usage*. *Alt. Med. Rev.* 1(2).

Morales, G., P. SIERRA, A. Parades, L. Loyola, Gallardo and Borquez. 2003. Secondary Metabolites from four Medical Plants from Northern Chile Antimicrobial Activity and Biototoxicity Against *Artemia salina*. **J. Chile Chem.** 48:2

Mutschler, E., 1991. *Dinamika Obat*. Edisi Kelima. Bandung: Institut Teknologi Bandung. Hal. 651-652.

Narwal, S. S., 2009. In: Sampietro, D. A., Catalan, C. A. N., Vattuone, M. A. (Eds). Isolation, Identification and Characterization of Allelochemicals/Natural Products. USA: Science Publishers. p. 106, 111-114.

Nataro, J.P. and J.B. Kaper. 1998. Diarrhegenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiol. Rev.* 1(11): 15–38.

Neal. M.J., 2006, *At a Glance: Farmakologi Medis*, Edisi V, diterjemahkan oleh dr. Juwalita Surapsari, Jakarta, Erlangga

Nester, E. W., Anderson, D. G., Roberts, C. E., Nester, M. T., 2007. **Microbiology: a human perspective**. Edisi ke-5. Hal. 496.

Noer, S. F., 2012. Pola Bakteri Dan Resistensinya Terhadap Antibiotik Yang Ditemukan Pada Air Dan Udara Ruang Instalasi Rawat Khusus Rsup Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar. **Majalah Farmasi dan Farmakologi**. Vol. 16, No.2, p. 73-78.

Pitisuttithum P : Acute Dysentery, DTM&H Course 2002, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Bangkok, Thailand.

Prawira, M., Sarwiyono., dan Puguh, S. 2013. Daya Hambat Dekok Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Penyebab Penyakit Mastitis Pada Sapi Perah. *Universitas Brawijaya*.

Pratiwi, S.T., 2008, **Mikrobiologi Farmasi**, Jakarta, Erlangga, 137,138,191,192

Prayoga, R. D. 2010. “Pemanfaatan Biji Kakao Untuk Produksi Polifenol Sebagai Senyawa Antibakteri”. Tidak Dipublikasikan. Skripsi. Jember: Jurusan

Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknik Pertanian Universitas Jember.

- Procop GW, Cockerill F. *Vibrio & Campylobacter*. In: Wilson WR, Drew WL, Henry NK, et al, Editors. *Current Diagnosis and Treatment in Infectious Disease*, New York: **Lange Medical Books**, 2003. 603 - 13.
- Radji, M., 2011, *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*, Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC, 125, 201
- Refdanita, Maksum R., Nurgani A., Endang P. 2004. Faktor yang Mempengaruhi Ketidak Sesuaian Penggunaan Antibiotika dengan Uji Kepekaan di Ruang Intensif Rumah Sakit
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi keenam. Terjemahan Padmawinata K. Penerbit ITB : Bandung.
- Rostina, T. 2009. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa L.*) terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Agar. *Laporan*. Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, Jatinangor.
- Rowe, R.C., J. S. Paul, J.W. Paul.. *Handbook of Pharmaceutical Exipients*. London:Pharmaceutical Press. 2009: 1-974
- Sabnis, R.W. 2007. *Handbook of Acid-Base Indicators*. U.S.: CRC Press.
- Salni, Marisa, H., Mukti, R. W., 2011. Isolasi Senyawa Antibakteri Dari Daun Jengkol (*Pithecolobium lobatum* Benth) dan Penentuan Nilai KHM-nya. **Jurnal Penelitian Sains**. Vol. 14 No. 1, p. 38-41.
- Setiabudy, R., 2008, *Farmakologi dan Terapi*, Edisi V, Jakarta, Departemen Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 585-587
- Silitonga, Y. W., Jamilah, I., Suryanto, D., 2013. *Pengendalian Sel Biofilm Bakteri Patogen Oportunistik Dengan Panas Dan Klorin*. P. 46-51.
- Siregar, A. F., Sabdono, A., Pringgenies, D., 2012. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*. **Journal Of Marine Research**. Vol. 1 No. 2, p. 152-160.
- Sirivichayakul C : Acute Diarrhea in Children, In : Tropical Pediatrics for DTM&H 2002, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol Univesity, Bangkok, Thailand,1-13.
- Siswoyo P. 2004. *Alternatif Obat Dengan Tumbuhan Alami : Tumbuhan Berkhasiat Obat*. Yogyakarta : Penerbit Absolut.
- Steenis, C.G.G.J, D Den Hoed, S Bloembergen, dan P.J Eyma. 2008. *Flora Untuk Sekolah DiIndonesia*. cetakan ke-12. Jakarta: Pradnya Paramita, hal 258-59.

- Tantivanich S : Viruses Causing Diarrhea, DTM&H Course 2002, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Bangkok, Thailand.
- Tjay, Tan Hoan, dan Kirana Rahardja. 2007. Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan, Dan Efek-efek sampingnya, Edisi keenam, hal 65. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Tjitrosoepomo, G. 1993. Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta), Cetakan ke-4. Yogyakarta: Gajah Mada University press.
- Todar, Kenneth. 2012. "Staphylococcus aureus and Staphylococcal Disease. Online Textbook of Bacteriology. " <http://textbookofbacteriology.net/staph.html>. Diakses pada tanggal jumat 20 oktober 2016.
- Torres, A. G., Arenas-Hernandes, M. MP, Martines-Laguna, Y., 2010. Pathogenic *Escherichia coli* in Latin America. In: Torres, A. G. (Ed.). Overview of *Escherichia coli*. United State of America: **Bentham e Books**, pp. 1.
- Tunjung, W.A.S., 2013. Obat Tradisional (Herbal) dan Metabolit Sekunder. **Majalah1000guru**. Vol. 1 No. 4, Hal 6 – 10
- Utami, P., 2008. **Buku Pintar Tanaman Obat**. Jakarta: Agromedia Pustaka. Hal. 186-187.
- Wells BG, DiPiro JT, Schwinghammer TL, Hamilton CW. Pharmacotherapy Handbook. 5th ed. New York: **McGraw-Hill**, 2003. 371-79.
- World Health Organization (WHO), 2014. **Infectious Diseases**. http://www.who.int/topics/infectious_diseases/en/. Diakses tanggal 1 Juni 2017.
- Wrolstad, R. 2001. *The Possible Health Benefits of Anthocyanin Pigments and Polyphenolics*, <http://lpi.oregonstate.edu/ss01/anthocyanin.html>. Diakses tanggal 24 Januari 2017.
- Yenny dan Herwana, E., 2007, Resistensi dari Bakteri Enterik : Aspek Global Terhadap Antimikroba, **Universa Medicina**, 26 (1), 53-54
- Yuniarti, T. 2008. Ensiklopedia Tanaman Obat Tradisional. Yogyakarta: Media Pressindo.
- Zeuthen, P., dan Sorensen, B. L. B. 2003. **Food Preservation Techniques**. London: Woodhead Publishing.